第22卷 第2期　　昆 虫 学 报　　Vol. 22, No. 2
1979年5月　　ACTA ENTOMOLOGICA SINICA　　May, 1979

昆虫卵黄原蛋白和卵黄发生

龚和　翟启慧
（中国科学院动物研究所）

近年来，昆虫卵黄发生（vitellogenesis）的机理和控制的研究是昆虫生理学中最活跃的研究领域之一。昆虫具有强大的繁殖力，能在短时间内产生大量含有卵黄的成熟卵。卵黄是由多种大分子组成的复合物，包括蛋白质、脂类和碳水化合物，其中蛋白质是主要成分。卵黄发生就是各种卵黄物质的形成及其在卵母细胞中的沉积。这是卵细胞发育成熟的必要前提。

到目前为止，昆虫卵黄发生的研究绝大多数是关于卵黄蛋白质的形成和沉积（Telfer, 1965; Engelmann, 1970; Mahowald, 1972; de Wilde & de Loof, 1973）。对于卵黄中脂类和碳水化合物成分的研究，则比较少见。卵黄中碳水化合物含量最少，主要是糖原，也有粘多糖。糖原是卵母细胞本身合成的，虽然在卵黄发生初期糖原合成酶即已存在，但糖原主要是在卵黄发生后期才合成。糖原分散于蛋白质卵黄球之间，粘多糖则存在于蛋白质卵黄球之中。粘多糖一般是在细胞膜上，卵黄球中有粘多糖，很可能是卵母细胞胞饮作用（pinocytosis）的结果。当胞饮囊合并为卵黄球时，来自卵膜的粘多糖便进入蛋白质卵黄之中。卵黄中脂类的含量比较多，以脂类卵黄球的形式分布，但其来源尚不清楚。过去曾经推测高尔基体和线粒体形成脂类卵黄球，但电镜研究否定了这种推测。在果蝇、天蚕蛾等多滋卵巢管中，一部分脂类卵黄球是从滋卵细胞进入卵母细胞的。在蜚蠊 *Leucophaea maderae* 中，离体培养试验证明标记的脂类从脂肪体释放到培养液中，然后被卵母细胞摄取。因此，至少在这种昆虫中，脂类是从脂肪体转移到卵黄的（Gilbert, 1967）。

蛋白质是卵黄的主要成分，它以卵黄球的形式分布于卵质中。蛋白质卵黄可以来自卵巢组织的不同部分，如卵母细胞本身，卵泡上皮细胞，滋卵细胞，或是来自卵巢以外的其他组织。在不同的昆虫种类中，由于卵巢管的结构不同，以及生活史与生活习性的差异，各种来源的蛋白质卵黄在卵黄形成中的相对重要性也不相同。

1. 卵母细胞

在无滋卵巢管（如飞蝗）中，卵母细胞的核含有巨型的灯刷染色体和数个核仁，RNA 合成速率很高，表明与卵黄中蛋白质的合成有关。在果蝇中，卵母细胞尚未开始从血淋巴摄取蛋白质之前，卵母细胞中就出现蛋白质卵黄。在天蚕蛾中，当卵母细胞停止从血淋巴摄取蛋白质之后，卵母细胞内部有蛋白质合成。以上这些都证明一部分卵黄蛋白质是由卵母细胞本身合成的。

2. 卵泡上皮细胞

在许多昆虫种类中，都已证明卵泡上皮细胞中 RNA 的含量很多，合成速率也很高。

这很可能与卵黄蛋白质的合成有关。在蝇类中观察到参入卵泡上皮细胞的 ^{3}H-组氨酸，以后进入卵母细胞，表明卵泡上皮确是参与卵黄蛋白质的形成。在天蚕蛾中，处于卵黄发生期的卵泡上皮细胞合成多种不同的多肽，其中有一种多肽在合成后被卵泡上皮分泌，然后被卵母细胞摄取，并组合到卵黄球中 (Bast & Telfer, 1976)。

3. 滋卵细胞

在多滋和端滋卵巢管的许多昆虫中，卵母细胞的核是不活动的，并不向卵母细胞供给 RNA。卵母细胞中的 RNA 和部分蛋白质都来自滋卵细胞。多滋卵巢管的滋卵细胞，到卵巢发育的一定阶段分解，分解产物进入卵母细胞，也是卵母细胞中蛋白质和 RNA 的来源。

4. 卵巢外组织

由卵巢外组织合成的一种特异的卵黄蛋白前体 (specific yolk protein precursor)，被释放到血淋巴中，然后被卵母细胞摄取，这是卵黄蛋白的最主要(70—90%)的来源。近年来，关于昆虫卵黄发生的研究几乎全部集中在这个方面。

上述这种特异的卵黄蛋白前体，通常被称为卵黄原蛋白 (vitellogenin)。由于这种蛋白是雌性所特有的，所以往往也称为雌性特异蛋白 (female specific protein)。然而雌性特异蛋白的名称并没有明确表明它和卵黄蛋白的关系。卵黄原蛋白这一名称虽然从动态的角度说明了这种蛋白和卵黄蛋白的关系，但是也不完全确切，因为它虽是最主要的但并不是唯一的卵黄蛋白的来源。尽管如此，卵黄原蛋白这一名词还是被普遍采用。

昆虫卵黄原蛋白的研究是 Telfer 开始的 (Telfer, 1954)。早在 1954 年，他首先用免疫化学方法在天蚕蛾(*Hyalophora cecropia*)的血淋巴中发现一种雌性特异血蛋白。在卵黄形成时血淋巴雌性蛋白的浓度降低，如果切除了卵巢，则雌性蛋白在血淋巴中明显积累。成熟卵细胞中含有比血淋巴中浓度高 20—30 倍的雌性蛋白。根据以上事实，Telfer 首次明确提出血淋巴中的雌性蛋白参与卵黄形成。从此以后，对于昆虫卵黄原蛋白的研究不断增多。应用凝胶电泳、免疫化学、器官培养、萤光标记、放射性同位素标记、电子显微镜等技术，现已发现这种蛋白普遍存在于全变态和不全变态的许多不同目的昆虫种类中，并已查明这种蛋白是在卵黄发生期由雌虫的脂肪体合成，释放到血淋巴中，发育的卵母细胞通过胞饮作用从血淋巴中选择摄取这种蛋白，组成 70—90% 的卵黄蛋白，这种蛋白和成熟卵母细胞中的卵黄蛋白在电泳图谱上具有相同的迁移率，并表现免疫学的相同特性。大量的研究还证明卵黄原蛋白的合成、释放、摄取等都受激素调节，在大部分昆虫中是受保幼激素 (juvenile hormone) 控制的。

在雄虫血淋巴中一般不含有卵黄原蛋白，少数种类(如家蚕)的雄虫中，这种蛋白即使存在，其量也很微，一般要比雌虫中低千倍，现已证明这是依赖于基因组的雌雄二态现象 (Karlinsky & Lamy, 1976; Lamy & Julien-Laferriere, 1976)。卵黄原蛋白在昆虫个体发育中出现的时间因种类而异，在天蚕蛾中出现于蛹后期，在沙漠蝗 (*Schistocerca gregaria*) 中出现于第五龄若虫期，在蜚蠊 *Nauphoeta cinerea* 和 *Periplaneta americana* 中则分别出现于成虫第三天和第五天。因此，卵黄原蛋白在雌虫血淋巴中出现的时间是与卵黄发生紧

密联系的（Pan 等，1969；Dufour 等，1970；Buhlmann，1976）。

昆虫卵黄原蛋白得到广泛深入的研究，是因为它在理论上和应用上都具有相当重要的意义：

1. 在系统发生上差距甚远的动物如鸟类、两栖类、爬行类、甲壳类等，与昆虫一样，也都有卵黄原蛋白。这种蛋白也是雌性特有的，由卵巢外组织（脊椎动物是在肝脏中）合成，然后进入卵细胞，并且也是受激素控制的。由于卵黄原蛋白在合成机理和激素调节等方面在上述各类动物中具有共同性，所以卵黄原蛋白就成为比较生理学研究的一个重要内容，也是研究大分子进化的有用材料。

2. 卵黄原蛋白具有性的特异性，在免疫学上便于鉴别，它大量沉积于卵母细胞中，来源集中，而且易于分离纯化，为深入研究大分子生物合成和激素在分子水平上的作用方式提供了有意义的模式系统。由于卵母细胞对卵黄原蛋白的摄取具有高度选择性，因此也是研究细胞胞饮摄取蛋白质的选择性机理的合适对象。

3. 昆虫的卵黄发生是卵巢成熟的关键，直接影响昆虫的繁殖力。卵黄发生的核心问题就是卵黄原蛋白的形成与摄取，因此，昆虫卵黄原蛋白的研究对于深入研究昆虫的生殖控制问题是很有价值的。可以进一步揭示大量产卵的内在规律，阐明害虫大发生的生理基础，并为促进有益昆虫的大量繁殖提供理论依据。

到目前为止，昆虫卵黄原蛋白的研究已在天蚕蛾、家蚕、蝽象、蜚蠊、蝗虫、蟋蟀、蚊虫、果蝇、马铃薯甲虫、黄粉岬等 20 多种昆虫中进行了大量的工作。主要的研究内容涉及到以下几方面：

1. 卵黄原蛋白的合成部位；
2. 激素对卵黄原蛋白合成的调节及其作用机理；
3. 卵母细胞对卵黄原蛋白的摄取；
4. 卵黄原蛋白的分离、鉴定和理化特性；
5. 各种生理因素对卵黄发生的影响；
6. 卵黄蛋白在胚胎发育中的命运。

目前关于昆虫卵黄原蛋白的文献虽然很多，但还没有见到一篇比较全面的综述性文章。本文将对上述几方面的研究概况进行综述和讨论。

一、卵黄原蛋白的合成部位

前面已经提到，Telfer（1954）早就发现在切除了卵巢的雌虫血淋巴中，卵黄原蛋白大量积累。这种现象表明卵黄原蛋白来源于卵巢以外的组织。昆虫的脂肪体在代谢功能上与哺乳动物的肝脏相似，是蛋白质合成的主要场所。但究竟是不是脂肪体合成卵黄原蛋白，却长期有争论。

脂肪体被认为是合成部位的根据是在有些昆虫中（天蚕蛾、长红猎蝽、蝗虫）血液中的卵黄原蛋白和脂肪体抽提物中蛋白的电泳迁移率相同。由于一些昆虫组织，包括脂肪体在内，已知是能吸收血蛋白的，因此，在脂肪体中这种蛋白的存在不能作为是在脂肪体中合成的结论性证据。

另一方面,在大多数昆虫中,从脂肪体的抽提物中不论用电泳或免疫扩散方法,往往不能找到与血淋巴中卵黄原蛋白相同的蛋白质。然而由于合成这种血蛋白的组织并不一定大量贮存它,所以在脂肪体抽提物中找不到这种蛋白,也不能证明脂肪体不合成这种蛋白。

这种争论直到1969年才由Pan等人解决(Pan等,1969)。他们用天蚕蛾(*Hyalophora cecropia*)和美洲蜚蠊(*Periplaneta americana*)进行研究。这是两种很不相同的昆虫,它们的卵黄发生也在许多方面很不一样:①美洲蜚蠊的卵黄发生受激素控制,天蚕蛾则不。②美洲蜚蠊的脂肪体和血淋巴含有2种不同的卵黄原蛋白,天蚕蛾只有一种。③卵黄原蛋白在个体发育中出现的时期也不同:美洲蜚蠊在成虫羽化后约5天出现,天蚕蛾在蛹后期出现,到成虫羽化时血淋巴中卵黄原蛋白达到高峰。尽管有这些不同,在二种昆虫中用脂肪体离体培养方法都证明脂肪体合成并释放卵黄原蛋白。因此,根据昆虫脂肪体在蛋白质合成中的重要地位,以及在上述两种很不相同的昆虫中所得到的一致结果,可以认为昆虫卵黄原蛋白一般来源于脂肪体。

近年来,在蜚蠊、飞蝗、蚊虫、果蝇等许多昆虫中进行了大量研究,无论是活体或离体试验都明确地证明卵黄原蛋白的合成场所是在脂肪体中。在一种南美洲的卵胎生蜚蠊 *Leucophaea maderae* 中,有人用器官培养方法研究了生殖活动期雌虫脂肪体合成卵黄原蛋白的情况(Koeppe & Ofengand, 1976b)。脂肪体中卵黄原蛋白的量随时间而增加,3小时后达到一个低水平的稳定状态,而培养液中的卵黄原蛋白的出现开始有一个延缓期,然后直线上升,表明这种蛋白合成后被大量释放。保温5小时后,所合成总蛋白的45%是卵黄原蛋白,被分泌的蛋白中75%是卵黄原蛋白,脂肪体所合成的卵黄原蛋白中约80%被分泌了。

Engelmann (1974, 1976)通过生化分析和电镜观察,又进一步研究了卵黄原蛋白在脂肪体中的合成部位。把生殖活动期和非活动期雌虫脂肪体细胞中内质网(ER)的结构(图版 I A, B)进行比较,可以看到在活动组织中微粒体上布满大量的核蛋白体和多聚体,因而微粒体小泡(vesicle)的平均密度比非活动组织要高得多,在卵黄沉积的高峰期可达1.24g/ml。在相同的分离条件下,活动脂肪体中单体和多聚体的产量也高得多。从注射了^{14}C-亮氨酸的成熟雌虫的脂肪体中制备出多聚体和微粒体,进行蔗糖密度梯度离心分析,游离单体和多聚体上只带极少的放射性,几乎所有的放射性都在微粒体小泡上。这就清楚地表明卵黄原蛋白是由结合在粗糙内质网上的多聚体合成,而不是在游离多聚体上合成的。如用高浓度的K^+和嘌呤霉素(puromycin)共同处理微粒体,可使核蛋白体全部从膜上脱下,但不能使卵黄原蛋白释放到溶液中,这证明合成的卵黄原蛋白是被分泌到粗糙内质网的囊泡(cisternae)内。这些结果表明成熟雌虫的脂肪体与脊椎动物肝脏等合成分泌蛋白的组织一样,它们的微粒体具有相同的功能特征和蛋白质合成方式。

除了脂肪体,是否还有别的卵巢外组织能够合成卵黄原蛋白呢?在果蝇、天蚕蛾、蜚蠊中都已证明肌肉、上皮、中肠、马氏管等组织均不能合成卵黄原蛋白(Pan等,1969; Gelti-Douka等,1974)。在其他昆虫中,用活体和离体方法也都没有发现其他卵巢外组织有合成卵黄原蛋白的能力。因此,目前一般认为,脂肪体是血淋巴中卵黄原蛋白的唯一合成场所。

二、激素对卵黄原蛋白合成的调节及其作用机理

昆虫中激素对卵黄原蛋白的调节控制的研究，最早可追溯到1936年 Wigglesworth 对长红猎蝽 *Rhodnius prolixus* 的生长和生殖中咽侧体功能的研究（Wigglesworth，1936）。他观察到咽侧体分泌的激素对于长红猎蝽雌虫中卵的发育成熟是必要的。到60年代，Engelmann 等首先报道血淋巴中雌性特异蛋白的出现与咽侧体的活动密切相关，并提出这种蛋白的合成是受咽侧体激素控制的（Engelmann & Penny，1966)。此后，借助精确的免疫学技术，证明在不同目的十多种昆虫中卵黄原蛋白的合成都是受保幼激素控制的（Doane，1973）。

除了通过摘除(或灼烧)内分泌器官、结扎、去头、移植内分泌器官、注射或点滴保幼激素类似物等方法在许多昆虫中定性地证明了保幼激素诱导卵黄原蛋白的合成以外，在有的昆虫中还观察了激素剂量和卵黄原蛋白合成之间的定量关系。例如在蜚蠊 *Leucophaea* 摘除了咽侧体的雌虫中，随着激素剂量的线性增加，标记氨基酸参入卵黄原蛋白的速率则呈指数变化（Engelmann，1971，1974)。

最近 Koeppe 和 Ofengand（1976b）也用蜚蠊 *Leucophaea* 为材料，进一步研究了保幼激素诱导卵黄原蛋白合成的动力学，观察到注射保幼激素诱导的卵黄原蛋白的合成比对照组大 50 倍以上。诱导作用的动力学过程表明，卵黄原蛋白的合成有一个延缓期（18小时），然后迅速上升，72—96 小时达到最高峰，接着就开始下降。在 72 小时合成高峰期，卵黄原蛋白的合成占总蛋白量的 75—80%。

根据目前所知，不同昆虫中对卵黄原蛋白合成的激素调节的方式是不一样的。虽然在大多数昆虫中卵黄原蛋白的合成是受保幼激素调节的，但是在蚊虫（Hagedorn，1974；Hagedorn 等，1975；Fallon 等，1974）和家蚕（One 等，1975）中已经证明是蜕皮素（ecdysone）控制卵黄原蛋白的合成。

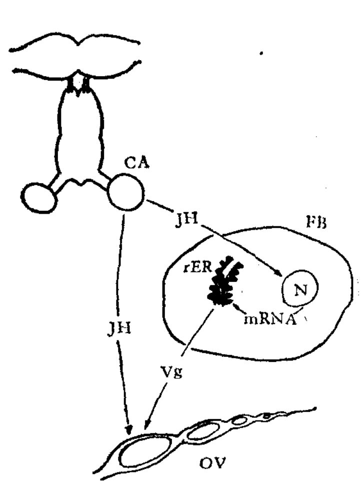
在埃及伊蚊中，卵巢发育分成 2 个阶段，第一阶段是从羽化到吸血前，卵母细胞发育到卵黄发生前期。这个阶段是受来自咽侧体的保幼激素调节的。第二阶段是从吸血到卵黄原蛋白的合成和积累。吸血刺激脑释放卵发育神经分泌激素 EDNH（egg development neurosecretory hormone)，EDNH 直接或间接地引起卵巢产生促卵黄原蛋白激素 VSH（vitellogenin stimulating hormone)，VSH 激活并控制脂肪体合成卵黄原蛋白。因此，埃及伊蚊与大多数的昆虫不同，它的卵巢作为一种激素(VSH)的来源器官，能控制卵黄原蛋白的合成。实验证明摘除卵巢使脂肪体的合成中断，重新移入卵巢，则又使合成恢复。而且，在离体器官培养系统中，吸血雌蚊的卵巢可以激活未吸血雌蚊的脂肪体合成卵黄原蛋白（Hagedorn，1974）。

以后发现，在未吸血的雌蚊中，注射 β-蜕皮素能诱导卵黄原蛋白的合成。在去头的或摘除卵巢的雌蚊中，蜕皮素也同样有效。在离体培养实验中，蜕皮素也能直接诱导脂肪体合成卵黄原蛋白。因此，在未吸血的雌蚊中，蜕皮素能代替或模拟 VSH 诱导卵黄原蛋白的合成（Fallon 等，1974)。注射蜕皮素后卵黄原蛋白合成的动力学曲线与吸血后的情况非常相似，而且在吸血雌蚊体内也能找到有蜕皮素存在。根据这些事实推断 VSH 可

能就是蜕皮素或是一种很近似的甾类化合物（Hagedorn，1974）。最后鉴定出卵巢分泌的是 α-蜕皮素，释放后在体内很快转变为 β-蜕皮素（Hagedorn 等，1975）。

综上所述，在一般昆虫中卵黄原蛋白的合成都是受激素控制的。但是很早就发现天蚕蛾这一类的鳞翅目昆虫是例外，因为将天蚕蛾的蛹摘除咽侧体并不影响卵的形成。为了明确天蚕蛾中卵黄原蛋白的合成是否需要保幼激素，最近有人又专门进行了观察。天蚕蛾 *Hyalophora cecropia* 的滞育蛹摘除咽侧体后，并不改变在被成虫（pharate adult）后期 ^{3}H-亮氨酸参入卵黄原蛋白，甚至在 4 龄和 5 龄幼虫初期摘除咽侧体也不能阻止卵黄原蛋白在正常的发育阶段出现在血淋巴中。注射保幼激素到分离的滞育蛹腹部也并不能促进 ^{3}H-亮氨酸参入卵黄原蛋白。因此，在天蚕蛾中，卵黄原蛋白的合成显然不需要保幼激素（Pan，1976，1977）。至于是否有其他的调控方式，则目前尚未见到任何报道。

激素的作用机理：既然已经证实在绝大多数昆虫中保幼激素诱导卵黄原蛋白的合成，那么进一步阐明保幼激素是通过什么具体途径来诱导这个重要大分子的合成，就成为当前大家最关注的问题。Engelmann 在蜚蠊 *Leucophaea* 中通过放线菌素 D（actinomycin D）和 α-鹅膏菌素（α-amanitin）对卵黄原蛋白合成的抑制作用，以及生殖活动期脂肪体 RNA 对卵黄原蛋白合成的促进作用等一系列工作结果，证明保幼激素影响特异 mRNA 的合成（Engelmann，1974）。Engelmann 根据他的一系列工作提出了一个保幼激素在转录水平控制卵黄原蛋白合成的模式（见图）（Engelmann，1976）：咽侧体分泌保幼激素，控制遗传信息的转录，卵黄原蛋白的信息在脂肪体细胞的粗糙内质网上进行翻译，合成的卵黄原蛋白被分泌到血淋巴中，被生长的卵母细胞摄取，摄取过程也受保幼激素控制。



昆虫中激素控制卵黄发生的示意图
（Engelmann，1976）
CA 咽侧体， JH 保幼激素
FB 脂肪体细胞 N 细胞核
mRNA 信使核糖核酸 rER
粗糙内质网膜 Vg 卵黄原蛋白 Ov 卵巢管

除蜚蠊外，最近在飞蝗中也研究了保幼激素的作用机理（Chen 等，1977）。从细胞学和生物化学两方面观察脂肪体在卵黄原蛋白合成开始以前的变化，发现脂肪体细胞的核长大，嗜碱性提高，粗糙内质网和高尔基体明显增殖，DNA 的含量几乎加倍，RNA 的合成加速，其净含量增加。摘除咽侧体则上述变化不能发生。用合成的保幼激素类似物处理，经过 48 小时的延缓期之后，卵黄原蛋白的合成在 72 小时达到高峰，到第 7 天下降到 0，在 10 天后进行第二次处理，卵黄原蛋白的合成立即重新开始，没有延缓期。从卵黄发生活动期的脂肪体中制备的 RNA 在小麦胚无细胞系统中，可以控制卵黄原蛋白的合成。这些结果提示了保幼激素是作用于细胞核，诱导 DNA 复制，蛋白质合成系统的建立，以及一种新的 mRNA 的合成。

在果蝇中通过观察 α-鹅膏菌素对卵巢成熟以及血淋巴中雌性特异蛋白含量的影响，证明在果蝇羽化不久，保幼激素的活性急剧升高，从而诱导卵黄原蛋白特异信息的合成及其翻译（Gavin & Willamson，1976）。

前面谈到，在蚊虫、家蚕等少数昆虫中，发现是蜕皮素控制卵黄原蛋白的合成。这说

明，与保幼激素在幼虫和成虫期具有不同功能的情况一样，蜕皮素除了在未成熟虫态的蜕皮过程中起主导作用外，在某些昆虫的成虫期卵巢发育中也起重要的调节作用。这个新的发现引起了广泛的兴趣。目前，蜕皮素作为一种促性腺激素，对其作用机理的研究受到很大重视，因为这有可能导致对昆虫生殖生理的重要新认识。

蜕皮素是在什么水平上控制卵黄原蛋白的合成呢？这个问题尚未最后肯定。有人观察到伊蚊吸血后首先激活特异 mRNA 和 rRNA 的合成，从而起动卵黄原蛋白的合成机器，因此提出了一个在转录水平上控制卵黄原蛋白合成的假设(Hagedorn 等，1973)。后来，别人利用不同的 RNA 合成抑制剂进一步研究蜕皮素是在什么水平上调节卵黄原蛋白的合成 (Fong & Fuchs，1976)。发现当 α-鹅膏菌素和蛹虫草菌素 (cordycepin) 与蜕皮酮一起注射时，并不抑制卵黄原蛋白的合成。相反，放线菌素 D 则有抑制作用。由于放线菌素 D 抑制所有 RNA 的合成，而 α-鹅膏菌素和蛹虫草菌素的作用比较有选择性，一般认为主要抑制 mRNA 的转录，因此可以推断蜕皮酮并不诱导特异 mRNA 的转录，虽然它可以影响其他 RNA 的合成。因此认为在伊蚊中卵黄原蛋白的 mRNA 是在吸血前就在脂肪体中转录了，吸血导致内源蜕皮素的产生，然后蜕皮素调节这些已形成的信息的翻译。所以，蜕皮素不是在转录水平而是在翻译水平上控制卵黄原蛋白的合成。

前面已经谈过，蚊虫的卵巢发育分为二个阶段，第一阶段受保幼激素调节，第二阶段(卵黄发生)受蜕皮素调节。最近已进一步明确了脂肪体对蜕皮素的反应是和保幼激素的作用分不开的。在刚羽化的蚊虫中，脂肪体对蜕皮素不起反应，脂肪体对蜕皮素的反应性有一个发展过程。这个过程是和卵巢发育第一阶段中保幼激素诱导的卵母细胞发育相吻合的。在羽化时被摘除咽侧体的蚊虫中，脂肪体不会产生对蜕皮素的反应能力，移入咽侧体或点滴保幼激素都可以恢复脂肪体的反应能力。这些结果证明脂肪体对蜕皮素反应的发展过程中确有保幼激素的参与 (Flanagan & Hagedorn，1977)。

卵黄原蛋白在脂肪体中合成后被释放到血淋巴中，关于这个过程的激素调节，报道还很少。Wyss-Huber 和 Lüscher (1972) 用离体培养方法证明保幼激素能促使脂肪体加速释放卵黄原蛋白。他们观察在蜚蠊 *Leucophaea* 中，卵黄原蛋白的合成与释放与生殖周期中咽侧体的活动状态有关。在卵母细胞成熟期，咽侧体的活性高，脂肪体释放卵黄原蛋白的速率大大增加，几乎所有新合成的卵黄原蛋白全被释放到培养液中。他们认为卵黄原蛋白释放速率加快的原因在于保幼激素影响了细胞膜的通透性，使脂肪体细胞容易释放蛋白质分子。此外，在美洲蜚蠊中也报道了保幼激素刺激脂肪体向血淋巴释放更多的卵黄原蛋白 (Krolak 等，1977)。

三、卵母细胞对卵黄原蛋白的摄取

卵黄沉积过程就是发育的卵母细胞从血淋巴中摄取卵黄原蛋白的过程。卵黄原蛋白从脂肪体进入血淋巴后，被发育的卵母细胞有选择地大量摄取，这是 Telfer (1954、1960) 首先在天蚕蛾 (*Hyalophora cecropia*) 中观察到的。他发现所有的血蛋白都能在卵母细胞中找到其抗原对应物，表明卵母细胞能从血淋巴中吸取积累各种蛋白。但从定量关系上看，在卵成熟过程中，血淋巴中雌性特异蛋白的浓度下降，而卵母细胞中这种蛋白的浓度

达到血淋巴的 20—30 倍。同时卵母细胞中其他蛋白的浓度则和血淋巴中基本相等。因此,卵母细胞是选择性地从血淋巴中吸取和积累大量雌性蛋白。

60 年代以后,在不同目的许多昆虫中也相继证明了卵母细胞对卵黄原蛋白的选择性摄取,并进一步阐明了卵黄原蛋白进入卵母细胞的途径。首先是在埃及伊蚊中观察到卵黄原蛋白进入卵母细胞是通过卵膜的胞饮作用。当卵黄开始沉积时,卵泡上皮收缩,卵泡细胞之间形成空隙,使血淋巴能更好地接触卵母细胞表面。血淋巴中的各种蛋白先在细胞间隙里浓集,然后卵膜上出现许多陷窝,充满卵黄原蛋白,陷窝形成液泡(胞饮囊)进入卵母细胞,合并成为大的卵黄球(图版 I-2)(Roth & Porter, 1964)。

虽然各种血蛋白都能在细胞间隙里浓集,而且卵黄原蛋白以外的其他非特异的血蛋白也在一定程度上进入卵母细胞,但是只有卵黄原蛋白具有刺激卵黄沉积的能力(Anderson & Telfer, 1970)。在天蚕蛾卵泡的离体培养中,卵黄原蛋白本身能够促进卵母细胞的胞饮作用(Hausman 等, 1971)。因此,摄取过程不仅选择卵黄原蛋白,而且需要这样蛋白来激活。推测卵黄原蛋白促进摄取的机理可能在于:①卵黄原蛋白对卵母细胞表面具有很强的亲合力,因而被优先吸附。②卵黄原蛋白刺激卵泡细胞释放一种活化剂,促进胞饮作用。或是③卵黄原蛋白对卵泡上皮及有关细胞膜的穿透能力比其他蛋白分子大。

最近,有人把卵黄发生整个过程看作一个流动系统,定量地测定了卵黄原蛋白合成速率,血淋巴卵黄原蛋白库的大小,以及卵母细胞发育时摄取卵黄原蛋白的速率(表 1)。可以看出,脂肪体对卵黄原蛋白的合成能力和卵巢对卵黄原蛋白的胞饮能力是很好配合的。可能是胞饮能力最后限制卵母细胞的生长速率。而胞饮能力是决定于卵母细胞膜对卵黄原蛋白的亲合性和膜内陷的速率(Bakker-Grunwald & Applebaum, 1977)。

表 1 亚洲飞蝗发育的卵母细胞(1.5—5.5 毫米长度)中卵黄原蛋白流动的参数

	脂肪体 →	血淋巴库 →	发育的卵母细胞
卵黄原蛋白浓度		8mg/ml	170mg/ml
亮氨酸参入速率	0.1—1.0/小时		
非特异蛋白摄取速率	–	$6\times10^{-4}-6\times10^{-3}$/小时	
卵黄原蛋白摄取速率	–	$1.2\times10^{-2}-1.2\times10^{-1}$/小时	
卵黄原蛋白流动 >	0.05—0.5mg/小时 →		

卵母细胞对卵黄原蛋白的摄取过程也是受激素控制的。在美洲蜚蠊的去咽侧体雌虫中,注射卵黄原蛋白不能刺激卵黄沉积,表明除血淋巴中的卵黄原蛋白以外,卵黄沉积必须要有保幼激素存在(Bell, 1969)。在蝽象 *Oncopeltus fasciatus* 的饥饿和滞育雌虫中,尽管血淋巴中有相当浓度的雌性特异蛋白存在,但卵巢不能形成卵黄。用保幼激素类似物处理后,就可以恢复卵黄沉积。这证明卵黄原蛋白的摄取直接受保幼激素的控制(Kelly & Davenport, 1976)。已经证明不仅在卵黄沉积的开始需要保幼激素来起动,而且在卵母细胞成熟的晚期,也需要保幼激素来维持卵黄沉积的继续进行(Wilhelm & Lüscher, 1974)。

近年来,有人利用一些不能沉积卵黄的果蝇变种研究激素对卵黄沉积的控制。在果蝇变种 ap^4 中,虽然其血淋巴中总蛋白和卵黄原蛋白的浓度与野生型相同,但卵母细胞不能

沉积卵黄，用保幼激素类似物处理后，可刺激 ap[4] 的卵母细胞沉积卵黄(Gavin & Williamson，1976)。在各种不同类型的雌性不育变种果蝇中，根据血淋巴中卵黄原蛋白的浓度、保幼激素处理后卵黄沉积的情况，以及变种和正常果蝇的卵巢相互移植后的发育情况等方面的观察，证明卵黄原蛋白的合成与摄取这二个过程的调节是受遗传控制的，并且是各自独立的 (Kambysellis & Craddock，1976)。

当长红猎蝽 *Rhodnius* 的卵巢管离体培养液中加入保幼激素时，可以观察到卵泡上皮改变形状。因此保幼激素对摄取过程的调节作用在于能引起细胞变形，使得卵黄原蛋白容易接近卵膜，从而促进胞饮作用的发生 (Huebner，1976)。

到目前为止，虽然在许多昆虫中都已证明卵黄沉积是保幼激素调节的，然而也有人报道卵母细胞对卵黄原蛋白的摄取不需要保幼激素。在黄粉岬卵母细胞的离体培养中，卵黄沉积的决定因素是培养液中要有卵黄原蛋白的存在，而加入法尼醇甲酯(一种保幼激素类似物)并没有促进作用。所以在这种昆虫中，卵黄原蛋白分子进入卵母细胞并不受保幼激素的干预 (Laverdure，1974)。

卵母细胞对卵黄原蛋白的摄取，具有两个特点：第一是高度选择性，卵母细胞表面与混杂的多种血蛋白接触，但是能从中识别并挑选出卵黄原蛋白分子进行摄取，这已在前面谈到了。第二个特点是具有种属的特异性。虽然在脊椎动物中，曾观察到鸡与鳄鱼这二种不同纲的动物之间能互相摄取卵黄原蛋白 (Schjeide 等，1963)，表明特异性并不高。但在昆虫中，特异性就高得多。有人曾报道在二种天蚕蛾 (*Hyalophora cecropia* 和 *Antherala polyphemus*) 中 (Telfer，1960) 和同一亚科内的几种相近的蜚蠊中 (Bell，1972) 能进行种间相互摄取。而在有的昆虫中不同属的卵黄原蛋白在免疫学上就不起交叉反应。一般说来，亲缘关系愈远相互摄取愈困难。几种蜚蠊对于德国小蠊 *Blattella germanica* 卵黄原蛋白的摄取能力随着系统发生的距离增加而下降，其顺序是 *B. germanica* > *B.* (接近 *humbertiana*) > *Symploce capitata* > *Suppella longipalpi* (Kunkel 等，1976)。德国小蠊和天蚕蛾 *Hyalophora cecropia* 这二种不同目的昆虫的卵黄原蛋白，虽然理化性质十分相近，但它们在免疫学上不起交叉反应，不能相互摄取 (Kunkel & Pan，1976)。

卵母细胞如何识别和选择卵黄原蛋白的机理，是目前普遍感兴趣的一个问题，因为这可以作为细胞如何通过细胞表面与周围环境进行通讯的一个例子。有人提出卵黄原蛋白分子上有识别部位，并正在对此进行研究。对卵黄原蛋白分子的理化分析的结果表明，卵黄原蛋白和非卵黄原蛋白之间，以及各种不同昆虫的卵黄原蛋白之间，在普通的理化性质，如分子量、形状、电荷、氨基酸组成等方面都是比较相似的，因此选择性的基础不可能是普通的理化性质，而是分子结构的微妙差异。免疫学的交叉反应是氨基酸顺序差异的标志，昆虫卵黄原蛋白的交叉反应一般不超出属的范围，表明其氨基酸顺序有明显的分歧。因此，有人认为识别的基础可能是卵黄原蛋白分子一级结构的差异(Kunkel & Pan, 1976)。但到目前为止，对卵黄原蛋白这样一个大分子的氨基酸顺序分析还有一定困难。也有人认为卵黄原蛋白分子上的碳水化合物基团可能在卵母细胞的选择性摄取中起重要作用 (Cohen 等，1976)。而且甘露糖基团曾被认为是一个识别的活性部位。但现已查明一般卵黄原蛋白表面都有甘露糖基团，所以不可能是识别部位 (Kunkel 等，1976)。

四、卵黄原蛋白的分离鉴定和理化特性

到目前为止,下列昆虫血淋巴中的卵黄原蛋白或卵细胞中的卵黄蛋白,已经被纯化鉴定: 蜚蠊 *Leucophaea maderae* (Brookes & Dejmal, 1968; Engelmann & Friedel, 1974); 德国小蠊 *Blattella germanica* (Oie 等, 1975; Kunkel & Pan, 1976), 埃及伊蚊 *Aedes aegypti* (Hagedorn & Judson, 1972), 天蚕蛾 *Hyalophora cecropia* (Pan & Wallace, 1974; Kunkel & Pan, 1976), 蓖麻蚕 *Philosamia cynthia* (Chino 等, 1976; 1977),飞蝗 *Locusta migratoria* (Gellissen 等,1976),安氏矩头蜱 *Dermacentor andersoni* (Boctor & Kamel, 1976)。

卵黄原蛋白的分离鉴定

比较简便而实用的分离纯化方法是沉淀法 (Dejmal & Brookes, 1968; Oie 等, 1975), 主要是利用卵黄原蛋白的溶解特性。用沉淀法可以得到一定纯度的卵黄原蛋白。如果要得到高度纯化的样品,一般采用各种柱层析法,以及蔗糖梯度离心或氯化铯梯度离心等方法。

鉴定卵黄原蛋白的常用方法是聚丙烯酰胺凝胶电泳。不仅可以根据 R_f 值来鉴定卵黄原蛋白的存在与否,而且还可以把染色后的凝胶进行光密度测定得到定量数据。此外,还可以结合特异性染色剂来鉴定这种复合蛋白分子中的类脂和醣。

SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳是鉴定卵黄原蛋白亚基组成的一种常用方法, 也是测定其分子量的方法之一。

除电泳方法外,免疫学技术是普遍采用的更为可靠的鉴定方法。卵黄原蛋白一旦进入卵母细胞后,虽然在结构上和理化特性上会有所改变, 但其免疫学的特性仍保持不变, 这是利用免疫学技术鉴定卵黄原蛋白和卵黄蛋白的根据。

卵黄原蛋白的物理化学性质

Kunkel 和 Pan (1976) 详细研究了德国小蠊和天蚕蛾的卵黄原蛋白的物理化学性质,并和德国小蠊中的两种非特异血清蛋白进行了比较,发现在德国小蠊和天蚕蛾这两种很不相同的昆虫中, 卵黄原蛋白具有相似的 Stoke's 半径、沉降系数和等电点。而且这两种卵黄原蛋白的分子量、形状和电荷,与非特异性蛋白也是比较相似的。

近年来, 已有不少人测定了纯化的昆虫卵黄原蛋白的分子量, 例如, 蜚蠊 *Leucophaea maderae*、天蚕蛾 *Hyalophora cecropia*、德国小蠊、埃及伊蚊、飞蝗等昆虫中,卵黄原蛋白的分子量都已用不同的方法进行了测定。 结果发现除个别情况外, 这个由多种成分组成的复合蛋白质的分子量接近 5×10^5 (Dejmal & Brookes, 1972; Engelmann 等, 1976; Pan & Wallace, 1974; Kunkel & Pan, 1976; Hagedorn & Judson, 1972; Gellissen 等, 1976)。

Kunkel 和 Pan (1976) 将德国小蠊、蜚蠊 *Leucophaea maderae*、飞蝗、天蚕蛾 *Hyalophora cecropia*、马铃薯甲虫、*Gallus gallus* 六种昆虫的卵黄原蛋白的氨基酸组成,同二种两栖类 (*Rana pipiens* 和 *Xenopus laevis*) 的卵黄蛋白以及昆虫血清中的非卵黄蛋白的氨

基酸组成进行比较，发现卵黄原蛋白中天冬氨酸和谷氨酸含量高，而甲硫氨酸的含量很低，和一般蛋白具有相似性。

脊椎动物的卵黄蛋白是一种由脂蛋白和磷蛋白紧密结合在一起的含脂量很高（16—20%）的脂磷蛋白，没有发现其中有碳水化合物。对昆虫卵黄原蛋白的研究证明，其成分比脊椎动物的更复杂，是由脂类、碳水化合物、胡萝卜素等多种成分组成的复合蛋白。

近年来，不少作者报道过昆虫卵黄原蛋白中脂类和碳水化合物的含量，现将结果归纳如下表：

表 2　昆虫卵黄原蛋白中脂类和碳水化合物的含量

来　　源	脂类含量%	碳水化合物含量%	著　　者
Hyalophora cecropia 血淋巴	9.4	1.0	Kunkel 和 Pan (1976)
Blattella germanica 血淋巴	15.7	4.5	Kunkel 和 Pan (1976)
Blattella germanica 卵	7.6	8.0	Oie 等 (1975)
Locusta migratoria 卵	10.0	12.0	Wyatt 等 (1976)
Philosamia cynthia 血淋巴	10.4	2.5	Chino 等 (1977)
卵	7.8		
Dermacentor andersoni 卵黄蛋白 A	5.7	4.5	Boctor 和 Kamel (1976)
卵黄蛋白 B	8.5	4.75	
Leucophaea maderae 卵	6.9	8.0—8.6	Dejmal 和 Brookes (1972)

对蓖麻蚕卵黄原蛋白的脂类组成的研究，证明卵黄原蛋白的脂类部分包括中性脂肪、胆固醇、磷脂等成分。在磷脂中又包括磷脂酰胆碱，磷脂酰乙醇胺和鞘磷脂。这些成分在血淋巴的卵黄原蛋白和卵的卵黄蛋白中的相对含量是不同的（Chino 等，1977）。

卵黄原蛋白中碳水化合物的主要成分是甘露糖。此外，还有少量的氨基葡萄糖，以及微量的唾液酸和戊糖。

卵黄原蛋白的亚基结构和成熟过程：

在 *Leucophaea* 中已经证明，由脂肪体合成和分泌到血淋巴中的卵黄原蛋白，沉降系数为 14S，它主要是由二个较大的多肽所组成。在卵母细胞中，卵黄原蛋白以二种形式存在。幼小的卵母细胞中主要是 14S (5.59×10^5) 的单体，而在成熟卵母细胞中主要是 28S (1.59×10^6) 的三体。14S 单体由 4 个多肽亚基按 A_1 B_1 C_2 D_2 的比例组成。28S 的三体仅含三个多肽，其比例是 A_1 B_3 C_2。因此，28S 并不是简单地由三个 14S 单体聚合而成。从 14S 转变为 28S 这一成熟过程包括特异性的蛋白分解，将 D 变为与 B 大小相同的 B^D，所以 28S 的真正组成应是 A_1 B_1 B_2^D C_2（Koeppe & Ofengand，1976a，1976b）。

根据以上结果来看，脂肪体合成的是一种前体蛋白，以此释放到血淋巴中；然后，可能在血淋巴中，也可能是在被卵母细胞摄取过程中，前体蛋白通过特异性蛋白分解作用转变为成熟的 14S。14S 聚合为 28S 时也包括特异性蛋白分解作用。

飞蝗卵母细胞中卵黄蛋白有 5 个亚基（Gellissen 等，1976）。飞蝗卵黄原蛋白在脂肪体合成时是一个分子量很大的前体，在释放到血淋巴时才产生 5 个亚基（Chen 等，1976）。

最近，在脊椎动物中也证明卵黄原蛋白是先合成为一个前体蛋白，然后分解为脂蛋白和磷蛋白。因此，先合成一个大的多肽作为前体，然后经过特异性分解变为成熟的卵黄原

蛋白,可能是卵黄原蛋白生物合成的普遍特点。

然而也有例外,美洲蜚蠊卵母细胞的卵黄蛋白有3个亚基,克分子比例是2:2:2。血淋巴的卵黄原蛋白具有同样的亚基结构。这说明二者的多肽组成相同。因此卵黄原蛋白在被摄取进入卵母细胞时没有发生结构变化(Sams 等,1977)。

五、各种生理因素对卵黄发生的影响

在正常的生理条件下,各种昆虫卵黄原蛋白的合成,释放和在卵母细胞中的沉积,都有一定的规律性。例如,一种卵胎生的蜚蠊 *Nauphoeta cinerea* 中,卵黄原蛋白在血淋巴中出现是在成虫期第三天,参入卵母细胞是在第五天(Buhlmann, 1976)。在最后两个龄期的雌性幼虫中,注射高剂量(100μg)的法尼醇甲酯能刺激幼虫组织合成卵黄原蛋白,但并不能促使幼虫的卵母细胞摄取卵黄原蛋白(Lanzrein, 1974)。营养、取食、饥饿、交尾、滞育、去势等生理因素,直接或间接地影响内分泌器官的活动,所以对卵黄原蛋白的合成和积累都会产生影响。作为控制昆虫生殖的一个重要方面,这些生理因子对于卵黄发生的影响已受到普遍重视。

营养、取食、饥饿的影响

在非洲飞蝗(*Locusta migratoria migratorioides*)中食物的质与量和产卵有密切关系。能否产生成熟的卵母细胞取决于卵黄发生能否起始,或是发育的卵母细胞是否被重吸收。以下三种情况中的任何一种都会抑制卵黄发生的起始:(1)食物中蛋白质的成分对于产生卵黄原蛋白不合适;(2)营养物质的量太低,不够形成卵黄原蛋白;(3)取食量太低,使脑神经分泌系统的活动降低,从而抑制咽侧体和卵的发育。在食物适宜的情况下,卵黄发生一旦开始,就能继续下去,卵母细胞重吸收的程度是卵黄发生过程中营养状况的反映。其中量的因素是关键的(McCaffery, 1975)。所以食物是卵黄发生的物质基础。

在蜚蠊 *Nauphoeta cinerea* 中,保幼激素和血淋巴中卵黄原蛋白的高浓度不能使不喂食物和水的雌虫恢复卵巢发育,这证明食物对卵巢发育的重要性(Buhlmann, 1976)。取食本身一方面提供生命活动必要的物质基础,另一方面取食活动和食物刺激是激活内分泌系统的信号。所以在昆虫中饥饿往往导致卵黄发生的中断和卵母细胞的重吸收。在东方蜚蠊 *Blatta orientalis* 中,饥饿5天后使卵黄发生受到抑制,主要表现在卵黄沉积和卵母细胞发育都停止了。到第15天卵母细胞开始被重吸收。各种昆虫采取不同的办法来度过饥饿状态,在大多数的种类中,饥饿使卵黄沉积中止后,卵母细胞很快被重吸收。但东方蜚蠊与一般昆虫不同,当饥饿使卵黄发生停止后,在尽可能长的时间内保留卵母细胞,而不立刻重吸收。在这种昆虫中,饥饿所引起的卵黄发生的中断看来不是由于缺少卵黄原蛋白,因为用锥虫蓝(trypan blue)模拟卵黄原蛋白的试验证明,在饥饿5天后卵母细胞停止摄取锥虫蓝(Sams, 1975)。

蝽象 *Oncopeltus fasciatus* 在饥饿情况下,血淋巴中存在一定浓度的卵黄原蛋白,卵巢不能形成卵黄是由于不能从血淋巴中摄取卵黄原蛋白。用保幼激素类似物处理这种饥饿昆虫,可使卵黄沉积恢复。处理后血淋巴中卵黄原蛋白浓度减少20倍,而其他血蛋白仅减

少不到2倍。在饥饿雌虫中，内源保幼激素的水平很快下降，而血淋巴中卵黄原蛋白保持正常水平。这种情况下，卵黄原蛋白是在新羽化雌虫中就已合成并贮存在血淋巴中的呢？还是卵黄原蛋白合成只需要低剂量的保幼激素或完全不依赖于这种激素？这个问题还有待于进一步的实验来回答（Kelly & Davenport，1976）。

滞育的影响

在昆虫中，成虫期的生殖滞育有二个特征：脂肪体肥大，卵巢发育停止在卵黄沉积前期。很多研究已证明滞育影响卵巢发育是通过抑制咽侧体，并且是作用于卵黄沉积的阶段。用保幼激素处理滞育雌虫，可以打破滞育使卵母细胞发育成熟。

在滞育雌虫的血淋巴中是否存在卵黄原蛋白，到目前为止，在不同昆虫中所得到的结果不一样。在马铃薯甲虫的滞育成虫中，有三种特异的滞育血蛋白，但卵黄原蛋白并不存在。注射保幼激素促进低水平的卵黄原蛋白的合成，同时抑制特异的滞育蛋白的合成（de Loof & de Wilde，1970）。在蝶类 *Nymphalis antiopa* 的滞育成虫中也不存在卵黄原蛋白（Herman & Bennett，1975）。而在果蝇 *Drosophila griesa*（Kambysellis & Heed，1974）和蝽象 *Oncopeltus* 中（Kelly & Davenport，1976）则相反，滞育成虫的血淋巴中存在卵黄原蛋白。在这两种昆虫中，保幼激素的作用在于调节卵黄原蛋白的摄取。从以上情况来看，保幼激素究竟是使卵巢恢复形成卵黄的能力呢？还是作用于另一种组织来弥补血淋巴中卵黄原蛋白的不足？仍然是不清楚的。

交配的影响

在许多昆虫中已经证明交配活动是激活并维持咽侧体活动，从而起动卵黄发生的一种必要的刺激。在蝽象 *Dindymus versicolor* 中，未交配雌虫的咽侧体受脑的抑制处于不活动状态。交配提供一个神经刺激，解除脑的抑制作用，从而促使咽侧体活动。在未交配的雌虫中，切断咽神经（allatic nerves）或割除前脑的一部分（抑制中心），能够模拟交配的效果，导致卵黄发生的开始（Friedel，1974）。在蜚蠊 *Nauphoeta cinerea* 中，卵黄原蛋白出现于交配之前，因此保幼激素也是在交配前就分泌的。交配进一步提高保幼激素的分泌量，从而促进卵黄原蛋白的大量合成（Buhlmann，1976）。

去势的影响

在摘除了卵巢的雌虫中，卵黄原蛋白在血淋巴中大量积累，这是早已观察到的现象。最近，在家蟋蟀 *Acheta domestica* 中证明了卵巢对卵黄原蛋白合成有控制作用（Bradley & Edwards，1976）。在摘除卵巢的雌虫中，由于卵黄原蛋白的积累，血淋巴的蛋白浓度升高，但卵黄原蛋白的净合成的速率因摘除卵巢而降低。在摘除一半卵巢的雌虫中，卵黄原蛋白的净合成的速率介于对照和摘除整个卵巢的中间，这些结果表明卵黄原蛋白对其合成有一种反馈抑制作用。但是也不排除这样的可能性，即卵黄原蛋白的合成需要一种卵巢激素来维持其正常的速率。

前面已经谈过，在伊蚊中卵巢作为蜕皮素的来源器官，对卵黄原蛋白的合成起重要的调节作用。摘除卵巢使脂肪体中卵黄原蛋白的合成中断，重新移入卵巢可使合成恢复

(Hagedorn, 1974)。

在蜚蠊 *Leucophaea* 中有人观察摘除卵巢对保幼激素诱导卵黄原蛋白合成的影响。发现在 100 微克剂量时，摘除卵巢并不影响卵黄原蛋白的合成，在低剂量时只有很小的影响。这证明卵巢并不参与保幼激素对卵黄原蛋白合成的诱导 (Koeppe & Ofengand, 1976b)。

六、卵黄蛋白在胚胎发育中的命运

关于卵黄蛋白在昆虫胚胎发育过程中起什么作用，它的命运如何，到目前为止，这方面的研究还非常少。有人认为卵黄系统在胚胎发育中起三方面的作用：①作为营养来源，②在必需蛋白质的产生中起运输作用，③作为胚胎的一种机械支持。把竹节虫 *Carausius morosus* 的胚胎移植到不含卵黄的培养液中几天之后，显示出由于缺少卵黄系统而造成的典型缺陷。用免疫组织化学方法研究竹节虫胚胎发育过程中，卵黄蛋白的分布和量的变化，观察到在 18 天的胚胎中，由于细胞层增多，与卵黄系统直接接触的情况已不复存在，因此产生了两种卵黄运输系统。一种是借助肌肉收缩，使充满卵黄颗粒的液体与胚胎的各个部分接触。另一种是变形细胞进行细胞内卵黄运输，其分枝能穿过芽基将卵黄运输到目的地 (Wolf-Neis 等, 1976)。

在德国小蠊中，用萤光抗体方法研究胚胎形成过程中卵黄蛋白的动态，观察到随着胚胎发育的进展，萤光从卵黄转移到卵黄核 (vitellophage)，在生长最剧烈时一直到达胚内的核。德国小蠊的胚胎发育期被划分为 18 阶段。从 1—4 阶段，卵黄原蛋白特异萤光均匀分布于卵黄球，到 5 阶段（腹部分节完成时），卵黄球变大，萤光强弱开始有差异。6 阶段时卵黄球合并成较大的卵黄块，萤光强弱的差异更为明显，呈现镶嵌状，此时卵黄核不显萤光。7 阶段（胚足带出现时）卵黄核开始有萤光，表明它从四周的卵黄球吸收卵黄原蛋白。到 12 阶段卵黄核的萤光又开始消失。到 11—13 阶段，在胚胎的体细胞核中观察到强萤光，特别是在卵黄核附近的细胞核中萤光最强。这说明细胞核中的卵黄原蛋白来自邻近的卵黄核（田中彰, 1975, Tanaka, 1977)。这些研究结果，对于进一步揭示卵黄原蛋白在胚胎发生中的作用是很有意义的。

结 束 语

昆虫卵黄原蛋白的研究是近年来昆虫卵黄发生的机理研究的焦点。这方面的研究受到广泛重视，工作进展很快。到目前为止，昆虫卵黄原蛋白的生物合成与激素调节研究较多，但有待于继续深入。现在有人正在致力于卵黄原蛋白 mRNA 的研究。如果昆虫卵黄原蛋白 mRNA 分离成功，并能在无细胞系统中进行翻译，将会把卵黄原蛋白的合成和激素作用方式的研究提高到一个新的水平。在高等动物中，不少分泌蛋白的 mRNA 的翻译，翻译产物的分泌途径以及在分泌过程中所经受的化学修饰，都已有比较详细的研究。昆虫卵黄原蛋白在这些方面与其他的分泌蛋白的异同，有待于今后的工作来回答。

卵母细胞对卵黄原蛋白的选择性摄取的机理，目前还很不清楚，这涉及到卵母细胞表

面对卵黄原蛋白分子的识别问题。因此，必须首先明确卵母细胞膜的结构与功能，膜上有无与卵黄原蛋白结合的特异受体部位，卵黄原蛋白分子上有无识别部位，激素如何作用等等。进一步阐明卵黄原蛋白选择性摄取的机理，将对细胞识别这个生物学基本问题提供有意义的资料。

另一方面，各种生理生态因子对卵黄原蛋白的合成和摄取的影响，是与昆虫繁殖力有直接关系的，因而有一定的应用意义。到目前为止，只有激素的影响研究较多。关于遗传的、营养的、环境的等等各类因子的相互关系，以及外因如何通过内因而起作用，是今后值得注意的。

卵黄蛋白的生理功能还是一个空白。目前只有个别人开始探索卵黄蛋白在胚胎发育中的作用。至于它对下一代的影响，完全一无所知，需要在今后逐步加以阐明。

总之，昆虫卵黄原蛋白，作为被一种组织(脂肪体)合成、分泌，又被另一种组织(卵母细胞)选择吸取的一个大分子，在合成、分泌、吸收的全过程中，在许多细节上有它的特殊性。同时，它作为卵黄的主要成分，在昆虫的生殖及胚胎发育中有它的重要性，而且和人为控制昆虫繁殖有一定的关系。因此，可以预期，对昆虫卵黄原蛋白的研究在今后将取得更快的进展。

参 考 文 献

Anderson, L. M. and Telfer, W. H. 1970 Extracellular concentrating of proteins in the cecropia moth follicle. *J. Cell Physiol.* **76**: 37—53.

Bakker-Grunwald. T. and Applebaum, S. W. 1977 A quantitative description of vitellogenesis in *Locust migratoria migratorioides*. *J. Insect Physiol.* **23**: 259—63.

Bast, R. E. and Telfer, W. H. 1976 Follicle cell protein synthesis and its contribution to the yolk of the Cecropia moth oocytes. *Develop. Biol.* **52**: 83—97.

Bell, W. J. 1969 Dual role of juvenile hormone in the control of yolk formation in *Periplaneta americana*. *J. Insect Physiol.* **15**: 1279—90.

Bell, W. J. 1972 Yolk formation by transplanted cockroach oocytes. *J. Exp. Zool.* **181**: 41—8.

Boctor, F. N. and Kamel, M. Y. 1976 Purification and characterization of two lipovitellins from eggs of the tick, *Dermacentor andersoni*. *Insect Biochem.* **6**: 233—40.

Bradley, J. T. and Edwards, J. S. 1976 Ovarian control of yolk protein synthesis in the house cricket, *Acheta domestica*. *Amer. Zool.* **16**: 199.

Brookes, V. J. and Dejmal, R. K. 1968 Yolk protien: structural changes during vitellogenesis in the cockroach *Leucophaea maderae*. *Science* **160**: 999—1001.

Buhlmann, G. 1976 Hemolymph vitellogenin, juvenile hormone, and oocyte growth in the adult cockroach *Nauphoeta cinerea* during first pre-oviposition period. *J. Insect Physiol.* **22**: 1101—10.

Chen, T. et al. 1976 Juvenile hormone control of vitellogenin synthsis in *Locust migratoria*. In: The Juvenile Hormone. Gilbert, L. J. (ed.) pp. 505—29.

Chen, T. T. et al. 1977 Juvenile hormone induced vitellogenin synthesis in Locust fat body. Fed. *Proc.* **36**: 926.

Chino, H. et al. 1976 Isolation and characterization of insect vitellogenin. Its identity with hemolymph lipoprotein II. *Biochim. Biophys. Acta*, **441**: 349—53.

Chino, H. et al. 1977 Further characterization of lepidopteran vitellogenin from hemolymph and mature eggs. *Insect Biochem.* **7**: 125—31.

Cohen, E. et al. 1976 Vitellogenic glycoproteins in the migratory locust *Locusta migratoria*. Colloques internationaux C. N. R. S. No. 251, Actualités sur les Hormores D'Invertébrés, pp. 465—73.

Dejmal, R. K. and Brookes, V. J. 1968 Solubility and electrophoretic properties of ovarian protein of the cockroach, *Leucophaea maderae*, *J. Insect Physiol.* **14**: 371—81.

Dejmal, R. K. and Brookes, V. J. 1972 Chemical and physical characteristics of a yolk protein from the ovaries of *Leucophaea maderae, J. Biol. Chem.* **247**: 869—74.

Doane, W. W. 1973 Role of hormones in insect development In: Developmental Systems: Insects. Vol. 2 pp. 291—497. Counce, S. J. & Waddington, C. H. (ed.)

Dufour, D. et al. 1970 Ontogenesis of a female specific protein from the locust, *Schistocerca gregaria. J. Insect Physiol.* **16**: 1369—77.

Engelmann, F. 1970 The Physiology of Insect Reproduction. pp. 49—56.

Engelmann, F. 1971 Juvenile hormone-induced synthesis of female specific protein in the cochroach *Leucophaea maderae. Arch. Biochem. Biophys.* **145**: 439—47.

Engelmann, F. 1974 Juvenile hormone induction of the insect yolk protein precursor. *Amer. Zool.* **14**: 1195—206.

Engelmann, F. 1976 Significance of ribosome-membrane association for vitellogenin synthesis in an insect. Colloques internationaus C. N. R. S. No. 251, Actualités sur les Hormones D'Invertébrés. pp. 459—64.

Engelmann, F. and Penny, D. 1966 studies on the endocrine control of metabolism in *Leucophaea maderae* (Blattaria). I. The hemolymph proteins during egg maturation. *Gen. Comp. Endocrinol.* **7**: 314—25.

Engelmann, F. and Fridel, T. 1974 Insect yolk protein precursor, a juvenile hormone induced phosphoprotein. *Life Sci.* **14**: 587—94.

Engelmann, F. et al. 1976 The native vitellogenin of the cockroach *Leucophaea maderae. Insect Biochem.* **6**: 211—20.

Fallon, A. M. et al. 1974 Activation of vitellogenin synthesis in the mosquito *Aedes aegypti* by ecdysone. *J. Insect Physiol.* **20**: 1815—23.

Flanagan, T. R. and Hagedorn, H. H. 1977 Vitellogenin synthesis in the mosquito: the role of juvenile hormone in the development of responsiveness to ecdysone. *Physiol. Entomol.* **2**: 173—8.

Fong, W. F. and Fuchs, M. S. 1976 The differential effect of RNA synthesis inhibitors on ecdysterone induced ovarian development in mosquitoes. *J. Insect Physiol.* **22**: 1493—9.

Friedel, T. 1974 Endocrine control of vitellogenin in the harlequin bug, *Dindymus versicolor. J. Insect Physiol.* **20**: 717—33.

Gavin, J. and Williamson, J. H. 1976a Synthesis and deposition of yolk protein in adult *Drosophila melanogaster. J. Insect Physiol.* **22**: 1457—64.

Gavin, J. A. and Williamson, J. H. 1976b Juvenile hormone-induced vitellogenesis in Apterous, a non-vitellogenic mutant in *Drosophila melanogaster. J. Insect Physiol.* **22**: 1737—42.

Gellissen, G. et al. 1976 Purification and properties of oocyte vitellin from the migratory locust. *J. Comp. Physiol.* **B108**: 287—301.

Gelti-Douka, H. et al. 1974 Yolk protein in *Drosophila*: Identification and site of synthesis. *J. Exp. Zool.* **187**: 167—72.

Gilbert, L. I. 1967 Changes in lipid content during the reproductive cycle of *Leucophaea maderae* and effect of the juvenile hormone on lipid metabolism in vitro. *Comp. Biochem. Physiol.* **21**: 237—57.

Hagedorn, H. H. 1974 The control of vitellogenesis in the mosquito, *Aedes aegypti. Amer. Zool.* **14**: 1207—17.

Hagedorn, H. H. and Judson, C. L. 1972 Purification and site of synthesis of *Aedes aegypti* yolk protein. *J. Exp. Zool.* **182**: 367—78.

Hagedorn, H. H. et al. 1973 Vitellogenin synthesis by the fat body of the mosquito *Aedes aegypti*. evidence for transcriptional control. *Develop. Biol.* **31**: 285—94.

Hagedorn, H. H. et al. 1975 The ovary as a source of α-ecdysone in the adult mosquito. *Proc. Nat. Acad. Sci.* U. S. A. **72**: 3255—9.

Hausman, S. J. et al. 1971 The dependence of cecropia yolk formation in vitro on specific blood protein. *J. Cell Biol.* **48**: 303—13.

Herman, W. S. and Bennett, D. C. 1975 Regulation of oogenesis, female specific protein production, and male and female reproductive gland development by juvenile hormone in the butterfly, *Nymphalis antiopa. J. Comp. Physiol.* **99**: 331—8.

Huebner, E. 1976 Experimental modulation of the follicular epithelium of *Rhodnius* oocytes by juvenile hormone and other agents. *J. Cell Biol.* **70**: 251a.

Kambysellis, M. P. and Heed, W. B. 1974 Juvenile hormone induces ovarian development in diapausing cave-dwelling *Drosophila* species. *J. Insect Physiol.* **20**: 1779—86.

Kambysellis, M. P. and Craddock, E. M. 1976 Genetic analysis of vitellogenesis in *Drosophila*. *Genetics* **83**: s28.

Karlinsky, A. and Lamy, M. 1976 Juvenile hormone and vitellogenesis in the male *Pieris brassicae* L. *Ann. Endocrinol.* **37**: 529—30.

Kelly, T. J. and Davenport, R. 1976 Juvenile hormone induced ovarian uptake of a female-specipic blood protein in *Oncopeltus fasciatus*. *J. Insect Physiol.* **22**: 1381—94.

Koeppe, J. and Ofengand, J. 1976a Juvenile hormone-induced biosynthesis of vitellogenin in *Leucophaea maderae*. *Arch. Biochem. Biophys.* **173**: 100—13.

Koeppe, J. and Ofengand, J. 1976b Juvenile hormone induced biosynthesis of vitellogenin in organ cultures of *Leucophaea maderae* fat bodies. In: Invertebrate Tissue Culture. Application in medicine, Biology, and Agriculture. pp. 185—94. Kurstak, E. and Maramorosch, K. (ed.)

Krolak, J. M. et al. 1977 Vitellogenesis by the American cockroach: hemolymph and follicle protein patterns during vitellogenin synthesis. *J. Insect Physiol.* **23**: 381—5.

Kunkel, J. G. and Pan, M. L. 1976 Selectivity of yolk protein uptake: comparison of vitellogenesis of two insects. *J. Insect Physiol.* **22**: 809—18.

Kunkel, J. G. et al. 1976 Conservation of an active site for oocyte recognition in rapidly evolving vetillogenins. *Amer. Zool.* **16**: 249.

Lamy, M. and Julien-Laferriere, N. 1976 Protein vitellogenesis of *Bombyx mori* L. in a male as well as in female bodies is endocrine gland independent. *Ann. Endocrinol.* **37**: 531—2.

Lanzrein, B. 1974 Influence of a juvenile hormone analogue on vitellogenin synthesis and oogenesis in larvae of *Nauphoeta cinerea*. *J. Insect Physiol.* **20**: 1871—85.

Laverdure, A. M. 1974 Les apports de la technique des cultures in vitro dans l'étude de la vitellogenèse chez *Tenebrio molitor*. *C. R. Acad. Sci.* Paris, 278, serie D: 1511—2.

de Loof, A. and de Wilde, J. 1970 Hormonal control of synthesis of vitellogenic female protein in the Colorado beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *J. Insect Physiol.* **16**: 1455—66.

Mahowald, A. P. 1972 Oogenesis. In: Developmental Systems: Insects. Vol. 1, pp. 1—47. Counce, S. J. & Waddington, C. H. (ed.)

McCaffery, A. R. 1975 Food quality and quantity in relation to egg production in *Locusta migratoria migratorioides*. *J. Insect Physiol.* **21**: 1551—8.

Oie, M. et al. 1975 Vitellogenin in the eggs of the cockroach, *Blattella germanica*: Purification and characterization. *Development. Growth, Differentiation.* **17**: 237—46.

One, Shin-Etu, et al. 1975 The occurrence and synthesis of female and egg-specific proteins in the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect Biochem.* **5**: 313—30.

Pan, M. L. 1975 Is juvenile hormone required for the synthesis of vitellogenin in the cecropia silkmoth *Amer. Zool.* **16**: 198.

Pan, M. L. 1977 Juvenile hormone and vitellogenin synthesis in the cecropia silkmoth. *Biol. Bull.* **153**: 336—45.

Pan, M. L. and Wallace, R. A. 1974 Cecropia vitellogenin: Isolation and characterization. *Amer. Zool.* **14**: 1239—42.

Pan, M. L. et al. 1969 Vitellogenic blood protein synthesis by insect fat body. *Science,* **165**: 393—4.

Roth, T. F. and Porter, K. R. 1964 Yolk protein uptake in the oocyte of the mosquito *Aedes aegypti L. J. Cell Biol.,* **20**: 313—32.

Sams, G. R. 1975 Vitellogenic arrest in the cockroach, *Blatta orientalis*. *J. Insect Physiol.* **21**: 1203—10.

Sams, G. R. et al. 1977 Characterization of vitellogenin and vitellogenin mRNA in the cockroach. *Fed. Proc.* **36**: 927.

Schjeide, O. A. et al. 1963 Liver synthsis. plasma transport and structural alterations accompanying passage of yolk proteins. *Amer. Zool.* **3**: 167—84.

Tanaka, A. 1977 Immunohistochemical studies of vitellogenin during embryogenesis in the cochroach *Blattella germanica*. *J. Embryol. Exp. Morphol.* **38**: 49—62.

Telfer, W. H. 1954 Immunological studies of insect metamorphosis II. The role of a sex-limited blood protein in egg formation by the cecropia silkworm. *J. Gen. Physiol.* **37**: 539—58.

Telfer, W. H. 1960 The selective accumulation of blood proteins by the oocytes of saturniid moths.

Biol. Bull. 118: 338—51.
Telfer, W. H. 1965 The mechanism and control of yolk formation. *Ann. Rev. Entomol.* 10: 161—84.
Wigglesworth, V. B. 1936 The function of the corpus allatum in the growth and reproduction of *Rhodnius prolixus* (Hemiptera). *Quant. J. Microscop. Sci.* 79: 91—122.
de Wilde, J. and de Loof, A. 1973 Reproduction. In: The Physiology of Insecta, Vol. 1, 2nd ed. pp. 12—95. Rockstein, M. (ed.)
Wilhelm, R. and Lüscher, M. 1974 On the relative importance of juvenile hormone and vitellogenin for oocyte growth in the cockroach *Nauphoeta cinerea*. *J. Insect Physiol.* 20: 1887—94.
Wolf-Neis, R. et al 1976 Immunohistological studies on the distribution of yolk proteins in the stick insect (*Carasius morosus*). *J. Insect Physiol.* 22: 865—9.
Wyatt, G. R. et al. 1976 Juvenile hormone-induced vitellogenin synthesis in locust fat body in vitro. In: Invertebrate Tissue Culture. Applications in Medicine, Biology and Agriculture. pp. 195—202. Kurstak, E. and Maramorosch, K. (ed.)
Wyss-Huber, M. and Lüscher, M. 1972 In vitro synthesis and release of proteins by fat body and ovarian tissue of *Leucophaea maderae* during the sexual cycle. *J. Insect Physiol.* 18: 689—710.
田中彰 1975 チャバネゴキブリの胚発生过程における vitellogenin の運命。动物学杂志 84: 282。

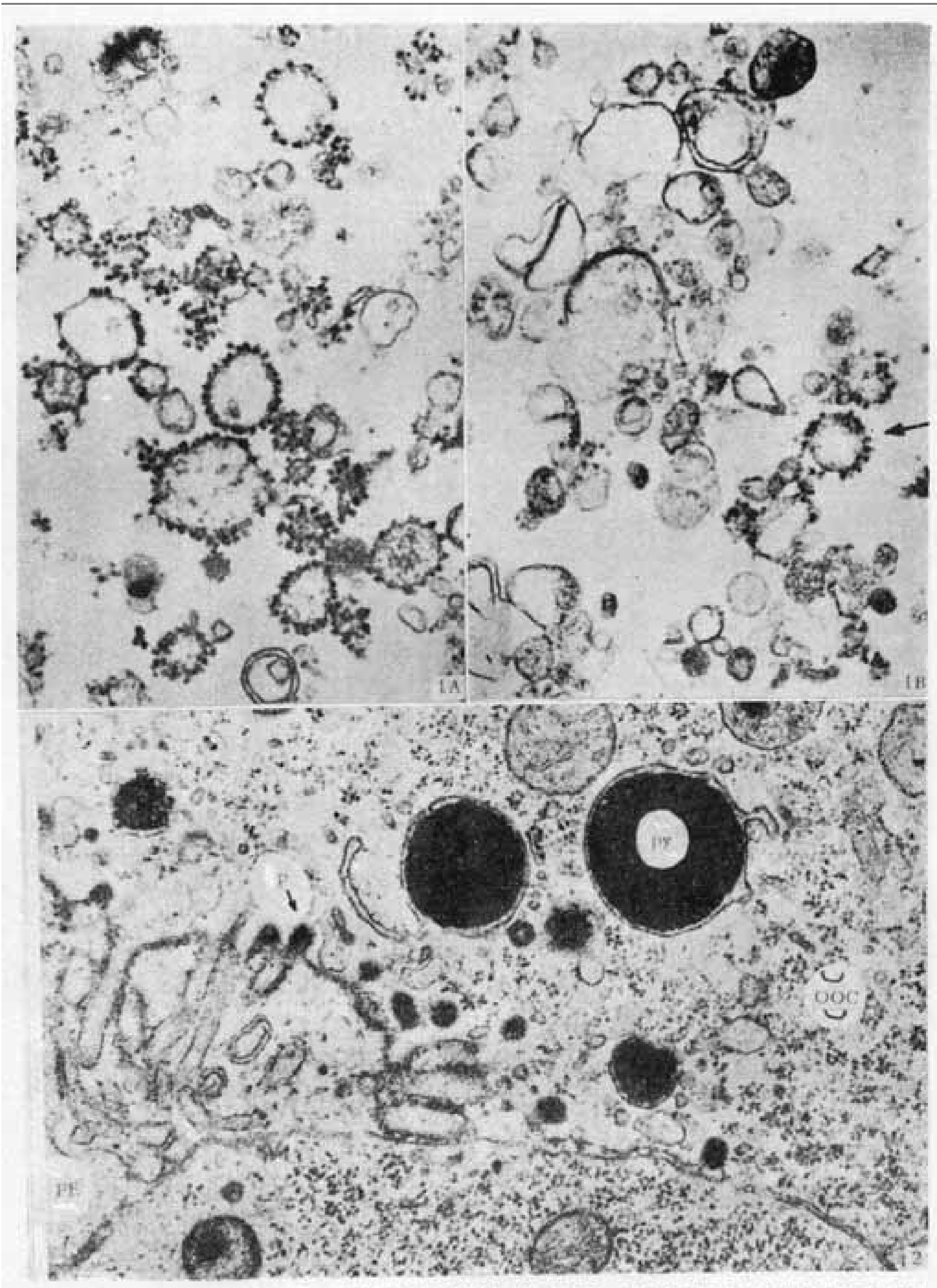
INSECT VITELLOGENIN AND VITELLOGENESIS

GONG HE CHAI CHI-HUI
(*Institute of Zoology, Academia Sinica*)

Insect vitellogenin is the yolk protein precursor synthesized in the fat bodies of matured female insects. After being released into the hemolymph, it is selectively taken up by the developing oocytes. In most insect species investigated, these processes are under the control of the juvenile hormone from the corpora allata.

In recent years, insect vitellogenin has been intensively studied not only because it is closely related to vitellogenesis and reproduction of insects, but also because it provides an excellent experimental model for studying the mechanism of insect hormone action at the molecular level. Studies on insect vitellogenesis and vitellogenin can also give useful information for comparative physiology and molecular evolution by comparing with those in other classes of animals.

This paper is a comprehensive review of the current researches on insect vitellogenin and vitellogenesis, dealing with the following problems: (1) site of synthesis of insect vitellogenin, (2) regulation of vitellogenin synthesis by insect hormone, (3) uptake of vitellogenin by developing oocytes, (4) identification and characterization of insect vitellogenin, (5) effect of various physiological factors on insect vitellogenesis, and (6) fate of yolk protein in insect embryonic development.



1A 蜚蠊 *Lencophaea* 成熟雌虫脂肪体制备的微粒体切片电镜图，在许多膜上有大量的结合核蛋白体 (Engelmann, 1974)。

1B 非生殖活动期雌虫脂肪体制备的微粒体切片电镜图。大部分的小泡完全没有核蛋白体，箭头所指是带有核蛋白体的微粒体 (Engelmann 1974)。

2. 埃及伊蚊卵泡上皮 (FE) 和卵母细胞 (OOC) 交界处的切片，卵膜上的陷窝 (p) 里充满的浓密物质与卵黄球 (py) 中的相似 (Roth & Porter, 1964)。